

• 综 述 •

植物精油缓解抗生素耐药研究现状

董 伟, 徐希强, 汪新婵, 赵国巍, 梁新丽*, 杨 明

江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004

摘 要: 抗生素耐药性 (AMR) 问题已成为当代医学一个日益严重的现象和挑战, 植物精油具有广谱的抗病原微生物的作用, 对多种细菌、真菌, 甚至病毒和寄生虫具有抑制作用。精油可以通过改变细菌外膜的通透性、抑制细菌外排泵、抑制细菌生物膜形成、抗细菌群体感应作用以及抑制细菌细胞分裂等方式缓解或应对病原微生物对抗生素的耐药。精油的抗菌研究正在蓬勃发展, 并成为未来潜在的研究领域。但植物精油在应用过程中也出现了耐药的问题。因此精油的抗生素治疗或替代应基于不同精油或精油与其他抗生素的组合和轮换, 以防止或延缓耐药菌株的出现。综述植物精油对抗生素耐药病原微生物作用的相关研究, 为其进一步研究提供思路和建议。

关键词: 植物精油; 抗病原微生物作用; 抗生素耐药; 精油耐药; 机制

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)15-4032-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.15.024

Research status of essential oil in alleviating antibiotic resistance

DONG Wei, XU Xi-qiang, WANG Xin-li, ZHAO Guo-wei, LIANG Xin-li, YANG Ming

Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: Antimicrobial resistance (AMR) is one of the most serious global public health threats in this century. Essential oils (EO) have a broad spectrum of anti-pathogenic microorganisms and have inhibitory effects on various bacteria, fungi, viruses and parasites. EO have been reported to inhibit bacterial efflux pump, biofilm formation, anti-quorum sensing effects, and cell division by altering cell membrane to alleviate or cope with antibiotic resistance of pathogenic microorganisms. Antimicrobial research of EO is booming, which will be a potential research area in the future. However, the problem of drug resistance also appeared in the application of EO, which may provoke the emergence of resistant human pathogens. Therefore, antibiotic treatment or replacement of EO should be based on the combination and rotation of different EO or EO with other antibiotics in order to prevent or delay the emergence of drug-resistant strains. This article summarizes the studies of EO on antimicrobial resistance and provides ideas and suggestions for further research.

Key words: essential oil; antibacterial action; antimicrobial resistance; essential oil resistance; mechanism

抗生素疗法是用于抵抗传染病的最重要疗法之一, 自其出现以来极大地改善了人类的健康状况。但随着抗生素的广泛运用, 抗生素耐药 (AMR) 现象已成为重要的公共健康议题之一, 因此需要开发新的治疗策略和新的抗菌化合物来应对 AMR。针对目前抗生素的滥用问题, 人们都在积极寻找新的抗生素替代品。植物精油 (essential oil, EO) 是从芳香植物 (花、叶、茎枝、种子、果实、根或树皮)

中提取的含有天然生物活性化合物的挥发性混合物, 毒性较低、无残留物。精油中的萜类、酚类、醇类均具有很强的抗菌活性, 具有广谱的抗病原微生物作用, 其中唇形科植物是含有抗菌特性植物精油中最重要的家族之一, 牛至 *Origanum vulgare* Linn.、百里香 *Thymus mongolicus* Ronn.、迷迭香 *Rosmarinus officinalis* Linn. 等精油已被广泛用于食品保鲜。研究表明植物精油由于具有多种生物活性, 可

收稿日期: 2019-12-12

基金项目: 中药学一流学科建设科研启动基金 (JXSYLXK-ZHYAO080, JXSYLXK-ZHYAO081, JXSYLXK-ZHYAO109)

作者简介: 董 伟, 讲师, 主要从事中药药效物质基础研究。Tel: (0791)87118658 E-mail: sober96@foxmail.com

*通信作者 梁新丽 Tel: (0791)87118658 E-mail: paln7@163.com

抑制或杀灭耐药病原微生物,在缓解 AMR 方面表现突出,如茶树 *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel、肉桂 *Cinnamomum zeylanicum* Blume、薄荷 *Mentha pulegium* Linn.、广藿香 *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.、百里香、牛至等精油,且不同的精油混合之后,由于不同成分之间存在协同作用,杀灭作用往往更强,作为广谱抗生素的替代药物逐渐发挥自身的优势^[1]。本文总结了植物精油对 AMR 病原微生物作用的相关研究,为其进一步研究提供思路和建议。

1 植物精油抗 AMR 病原微生物作用

1.1 抗革兰阳性细菌耐药作用

1.1.1 葡萄球菌 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 是目前感染的主要原因之一。研究显示多种植物精油如茶树精油、檀香 *Santalum austrocaledonicum* Vieill. 精油、没药 *Commiphora myrrha* (Nees) Engl. 精油、肉桂精油对 MRSA 有显著的杀菌活性^[2-3],肉桂精油的最低抑菌浓度 (MIC) 为 0.25 mg/mL^[4]。此外植物精油可显著降低 MRSA 对阿莫西林、四环素、哌拉西林、氧氟沙星和苯唑西林的耐药,GC/MS 分析这些精油当中的主要成分有桉萜、柠檬烯、松油烯-4-醇和 β -桉叶醇^[5]。牛至精油在低浓度下对人体无毒,且具有广谱抗菌活性,可抑制对碳青霉烯类抗生素耐药的 MRSA 的生长^[6]。摩洛哥薰衣草 *Lavandula coronopifolia* Poir. 精油及其主要成分香芹酚、石竹烯氧化物对 MRSA 有抗菌作用, MIC 为 1%~4%^[7]。植物精油中的芳香族单萜成分如百里香酚、对甲基苯丙胺、 γ -萜品烯对多重耐药金黄色葡萄球菌临床分离株有抑制作用, MIC < 0.02 μ L/mL^[8]。

1.1.2 肠球菌 随着万古霉素大量使用,耐万古霉素的粪肠球菌 *Enterococcus faecalis* 和屎肠球菌 *E. faecium* 日益增多。研究显示曲序香茅 *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Wats. 精油和百里香精油对多药耐药的肠球菌属 *Enterococcus* spp. 细菌有抑制作用, MIC 分别为 1.9~15.0 mg/mL 和 0.47~1.90 mg/mL^[9]。精油中的含氧倍半萜成分对耐药的粪肠球菌具有显著的抗菌作用^[10]。

1.1.3 肺炎链球菌 *Streptococcus pneumoniae* 肺炎链球菌被认为是社区和医院感染的主要原因之一。研究显示百里香精油和牛至精油对抗氟喹诺酮类耐药肺炎链球菌临床分离株有抗菌作用, MIC 分别为

0.625~2.5 μ L/mL 和 1.25~5 μ L/mL,这 2 种精油与氟喹诺酮类抗生素的联合应用可作为克服耐氟喹诺酮肺炎链球菌的替代疗法^[11]。

1.2 抗革兰阴性细菌耐药作用

1.2.1 大肠杆菌 *Escherichia coli* 目前大肠杆菌在健康人群及动物的肠道中对多种药物的耐药率逐渐增高,由其耐药菌株引起的感染也有增多趋势。牛至精油在低浓度下具有广谱抗菌活性,可抑制大肠埃希菌等革兰阴性菌的生长^[6]。肉桂精油以及其中的反式肉桂醛、苯甲醇、丁香酚可逆转大肠杆菌 J53 R1 对哌拉西林的耐药性^[12];其对耐药大肠埃希氏菌的 MIC 为 0.25 mg/mL^[4]。罗勒 *Ocimum basilicum* L. 精油和迷迭香 *Rosmarinus officinalis* L. 精油对多药耐药的大肠杆菌临床株包括广谱 β -内酰胺酶阳性菌 (EBSL) 有抑制作用,而罗勒精油的抑菌作用更强^[13]。薄荷精油、肉桂精油和薰衣草精油对 β -内酰胺酶介导的大肠杆菌耐药有逆转作用,可减少抗生素的用量并降低抗生素的不良不良反应^[14]。此外摩洛哥薰衣草精油及其主要成分香芹酚、石竹烯氧化物对大肠杆菌有抗菌作用^[7]。

1.2.2 铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* 铜绿假单胞菌为常见条件致病菌,是目前院内感染重要病原菌之一。其容易产生抗生素水解酶或钝化酶,且由于自身结构加之抗菌药物诱导等影响,极易发生耐药。研究显示茶树精油、檀香精油、没药精油、肉桂精油对铜绿假单胞菌有杀菌作用^[2-3]。苘麻 *Abutilon theophrasti* Medicus 精油可抑制多药耐药铜绿假单胞菌^[15]。肉桂精油对铜绿假单胞菌 MIC 为 0.25 mg/mL。而红果仔 *Eugenia uniflora* L. 精油 MIC 为 92.40 mg/mL^[4]。肉桂精油及其活性成分肉桂醛、丁香酚对多药耐药铜绿假单胞菌有抗菌作用,其中肉桂醛的抗耐药铜绿假单胞菌作用比丁香酚强^[16]。此外一些精油中的含氧倍半萜成分对多重耐药铜绿假单胞菌有较强的抗菌作用^[17]。

1.2.3 肺炎克雷伯菌 *Klebsiella pneumoniae* 肺炎克雷伯菌是引起医院获得性血流感染、外科手术部位感染、消化道感染及社区获得性肺炎的常见条件致病菌。茶树精油对超广谱 β 内酰胺酶生产者碳青霉烯敏感的肺炎克雷伯菌、碳青霉烯抗性肺炎克雷伯菌有杀菌作用^[2]。牛至精油在低浓度下具有广谱抗菌活性,可抑制产肺炎克雷伯菌的生长^[6]。薄荷精油、百里香精油对致病性肺炎克雷伯菌有抑制作用^[18]。

1.2.4 鲍曼不动杆菌 *Acinetobacter baumannii* 鲍

曼不动杆菌为常见的需氧革兰阴性杆菌,广泛分布于自然环境和人体腔道及皮肤表面,是仅次于铜绿假单胞菌感染的非发酵菌,其对多种药物的耐药率也逐年增加。研究显示植物精油可有效降低鲍曼不动杆菌对阿莫西林和氧氟沙星的交互作用中的耐药性^[5]。茶树精油、牛至精油、摩洛哥薰衣草精油对鲍曼不动杆菌有抗菌作用^[2]。赤桉精油对多药耐药鲍曼不动杆菌伤口分离株有抗菌作用, MIC 为 0.5~2 $\mu\text{L/mL}$ ^[19]。

1.2.5 沙门菌 *Salmonella* 沙门菌为肠杆菌科中一种重要的人畜共患病原菌,是世界范围内主要的食源性致病菌。沙门菌的多重耐药问题一直是医学、兽医学、公共卫生学关注的焦点。研究表明肉桂精油对鼠伤寒沙门菌、肠沙门菌有杀灭作用, MIC 为 0.25 mg/mL; 丁香 *Caryophyllus aromaticus* L. 精油对肠道沙门菌 MIC 为 2.40 mg/mL; 红果仔精油对沙门菌 MIC 为 92.40 mg/mL^[4]。黑种草 *Nigella sativa* Linn. 精油对多种抗生素耐药的人和家禽来源的肠沙门菌显示出抗菌活性, 平均 MIC $\geq (1\ 000.0 \pm 322.7) \mu\text{g/mL}$ ^[20]。摩洛哥薰衣草精油对沙门菌有抗菌活性, MIC 为 1%~4%^[7]。

1.2.6 其他 曲序香茅精油和百里香精油对多药耐药的产气单胞菌有抑制作用^[9]。

1.3 抗真菌耐药作用

真菌感染的治疗中由于常规抗真菌药物的耐药性、高毒性和过度使用,导致真菌对抗生素耐药性增加,其中最严重和普遍的是念珠菌属在人体中引起各种类型的表面和深层感染。目前茶树精油的抗念珠菌作用研究相对较多,体外实验显示其对临床上分离的致病性真菌有杀灭作用,氟康唑(fluconazole)和伊曲康唑(itraconazole)对白色念珠菌 *Candida albicans* 感染的大鼠有治疗作用^[21]。茶树精油、百里香精油、薄荷精油和丁香精油对念珠菌临床和食源性菌株(包括抗生素耐药分离株)有抗菌作用,真菌对精油的敏感性可能与真菌细胞表面的疏水性作用部分相关^[22]。茶树精油及其主要生物活性成分萜品烯-4-醇(terpinen-4-ol)对耐氟康唑白色念珠菌的 MIC 为 0.06%~0.5%;亚致死剂量的茶树精油可增强菌株对氟康唑的敏感性, MIC 从 244.0 $\mu\text{g/mL}$ 降至 38.46 $\mu\text{g/mL}$, 并且氟康唑最小杀真菌浓度(MFC)从 254.67 $\mu\text{g/mL}$ 降至 66.62 $\mu\text{g/mL}$ 。萜品烯-4-醇比茶树精油的抗真菌作用更强,可显著增强氟康唑对耐药白色念珠菌菌株的敏感性^[23]。牛

至精油、墨西哥牛至 *Lippia graveolens* Kunth 精油和肉桂精油对氟康唑敏感的光滑念珠菌 *Candida glabrata* 均有抗真菌作用, MFC $\leq 3.2 \text{ mg/mL}$, 其中肉桂精油还对氟康唑耐药的平滑念珠菌菌株显示出显著的抗真菌活性^[24]。此外,佛手柑 *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle 精油和茶树精油对卡泊芬净(caspofungin)和氟康唑耐药的原壁菌属 *Prototheca* 细菌生长有抑制作用^[25]。百里香精油和牛至精油对从尿路感染犬和猫分离的大肠杆菌、肠球菌、白色念珠菌和无名假丝酵母菌 *Candida famata* 的多重耐药株有抗菌作用^[26]。苘麻精油所含的 hibicuslide C 具有抗真菌活性,可破坏白色念珠菌细胞膜及诱导其凋亡^[15]。

1.4 抗病毒耐药作用

植物精油对一些耐药病毒也有作用。研究显示生姜 *Zingiber officinale* Rosc.、百里香、牛膝草 *Hyssopus officinalis* L. 和檀香等精油对临床分离出耐阿昔洛韦的单纯疱疹病毒(herpes simplex virus type 1, HSV-1)有显著杀灭作用^[27]。

1.5 抗寄生虫耐药作用

布锥虫 *Trypanosoma brucei* 是引起非洲锥虫病(人类昏睡病和其他动物的非洲锥虫病)的寄生性原生动物,但关于抗锥虫药的研究一方面是进展缓慢,另一方面是传统抗锥虫药物因几十年的使用产生耐药性。研究发现植物精油对锥虫也有杀灭作用。啤酒花 *Humulus lupulus* Linn. 精油主要含有单萜烯和倍半萜烯类成分,有抗布锥虫的作用,其 IC₅₀ 为 $(7.93 \pm 2.29) \sim (10.68 \pm 0.48) \mu\text{g/mL}$ ^[28]。孔雀草 *Tagetes patula* L. 精油对绵羊多药耐药捻转血矛线虫 *Haemonchus contortus* 的寄生有抗耐药作用,可抑制虫卵和幼虫,通过中断其生命周期和/或防止其进入感染阶段来控制线虫感染^[29]。

2 植物精油与其他抗病原微生物药物的协同作用

精油与精油或精油与抗生素之间具有协同作用,可以增强疗效、降低毒性、减少不良反应、提高生物利用度、降低抗生素剂量,并减少和延缓抗生素耐药性的出现,因此包含天然产物的新型抗菌组合药物目前已成为研究重点。

2.1 精油与抗生素的协同作用

哌拉西林/肉桂精油、哌拉西林/薰衣草精油、哌拉西林/薄荷精油以及美罗培南/薄荷精油存在明显的协同抗大肠杆菌作用,分级抑菌浓度指数(FIC)为 0.26~0.50^[14]。肉桂精油、肉桂醛与多粘

菌素组合,对多药耐药铜绿假单胞菌有协同作用,FIC 分别为 16.7%和 10%^[16]。鼠尾草 *Salvia sclarea* L. 精油与四环素有相互协同作用^[30]。茶树精油与抗生素组合时在亚抑制浓度下显示出较高的协同作用,尤其是茶树精油与苯唑西林组合对 MRSA 具有协同抗菌作用^[2]。薄荷精油或葛缕子精油 *Carum carvi* L. 与庆大霉素结合对产超广谱 β -内酰胺酶(ESBL)和新德里金属 β -内酰胺酶-1(NDM-1)的肺炎克雷伯菌显示出协同活性。庆大霉素与百里香精油、茴香 *Foeniculum vulgare* Mill. 精油、罗勒精油和鼠尾草精油结合具有协同作用^[31]。苘麻精油所含的 hibicuslide C 与氟喹诺酮和利福平对铜绿假单胞菌有协同作用^[15]。赤桉 *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. 精油与环丙沙星、庆大霉素和多粘菌素 B 合用,对杀灭耐药鲍曼不动杆菌存在协同作用,可减少抗生素剂量^[19]。

2.2 精油与精油的协同作用

肉桂精油和丁香精油分别与迷迭香的组合,檀香精油、没药精油的组合对 MRSA、铜绿假单胞菌、沙门氏菌有抗菌协同作用^[3-4]。埃塞俄比亚传统药用植物 *Blepharis cuspidate* Lindau、*Boswellia ogadensis* Vollesen 和 *Thymus schimper* Ronniger 的精油按 1:1 两两混合后存在协同作用,对多药耐药性的大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌有显著的抗菌作用^[32]。沙拐枣 *Calligonum comosum* L'Hér. 精油与指甲花醌(lawsone)组合对多药耐药的念珠菌等真菌有杀灭作用,其抗菌作用相比各自单独使用时增强至少 3 倍,而将其掺入到脂质体中后应用则毒性降低 4~8 倍,但同时保持了组合原有的抗菌增强作用^[33]。

3 植物精油抑制抗生素耐药的作用机制

3.1 改变外膜的通透性

革兰阴性细菌由于其外膜结构复杂,因此比革兰阳性细菌对抗生素更具耐药性。萜烯是植物精油的微量成分,由于其脂质属性可以增强精油渗透进入富含脂质的革兰阴性菌细胞膜的能力^[6]。大肠杆菌和多药耐药大肠杆菌经过肉桂精油作用后,其细胞膜被精油破坏,扫描电镜观察和细菌表面电荷量测定显示肉桂精油使细菌细胞膜不可逆损伤并减少了细菌表面的电荷^[12]。生姜精油及其成分 9,12-十八碳二烯酸甲酯可以穿透革兰阴性细菌外膜和线粒体的脂质层,导致细菌的结构组织和完整性丧失,从而对从烧伤感染伤口分离的多药耐药或泛耐药铜绿

假单胞菌有抗菌作用^[34]。薰衣草、柠檬草 *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf、马郁兰 *Origanum majorana* L.、薄荷、茶树、蔷薇木 *Aniba rosaeodora* Ducke 等精油及其主要抗菌成分松油烯-4-醇和香叶醇可导致洋葱伯克霍尔德菌 *Burkholderia cepacia* 细胞膜脂肪酸组成产生变化使膜结构破坏^[35]。黑种草精油及其成分百里醌、香芹酚、对伞花烃可破坏耐甲氧西林金黄色葡萄球菌和单核细胞增多性李斯特菌细菌 *Listeria monocytogenes* 膜完整性,抑制其对抗生素的耐药性^[36-37]。

3.2 抑制细菌外排泵

细菌外排泵导致的药物外排作用可将细菌胞内的抗菌药物或其他底物主动泵出胞外。原核生物细胞膜上已发现的外排泵有 5 种:ATP 结合盒超家族转运蛋白(ATP-binding cassette, ABC)、主要易化因子超家族转运蛋白(major facilitator superfamily, MFS)、多药及毒性化合物外排家族转运蛋白(multidrug and toxic-compound efflux, MATE)、小多重耐药家族转运蛋白(small multidrug resistance, SMR)、耐药结节分化细胞分化家族转运蛋白(the resistance-nodulation-division, RND)。植物精油及其有效成分有抑制细胞膜上外排泵的作用,如旋覆花 *Inula japonica* Thunb. 精油和白芷 *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. ex Franch. 精油可下调细胞的 ABCB1 表达和降低脂筏稳定性^[38]。土荆芥 *Chenopodium ambrosioides* L. 精油可以降低金黄色葡萄球菌对诺氟沙星的耐药性,表现出对外排泵的抑制作用,其主要成分 α -萜品烯(α -terpinene)虽然对金黄色葡萄球菌 1199B 株没有直接抗菌作用,但在与抗菌药物结合时表现出抗菌增强作用^[39]。研究显示巴豆 *Croton grewiioides* Baill 叶精油及其单萜和倍半萜类成分(主要为 α -蒎烯)可以抑制外排泵,其在体外没有抗菌活性,但巴豆叶精油与诺氟沙星组合,可使其针对 MRSA MIC 降低 64 倍,而与四环素组合时, MIC 降低 4 倍。 α -蒎烯与四环素组合时,四环素的 MIC 降低 32 倍^[40]。黄花草 *Cleome viscosa* L. 精油纳米乳液作用于耐药细菌细胞中脂质、蛋白质和核酸的官能团,导致耐药细菌的细胞膜和细胞壁的损伤,可通过抑制耐药菌株的外排泵起作用^[41]。松油烯-4-醇和香叶醇是某些植物精油的主要抗菌成分,其以外排依赖的方式对非生长细胞有杀灭作用^[35]。百里香精油和牛至精油对 PmrA 外排泵基因过表达的氟喹诺酮耐药肺炎球菌显著下调 PmrA

基因^[11]。鼠尾草精油作用于金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌,可降低四环素的 MIC,减少抗生素流出并降低 tet (K) 基因在四环素耐药表皮葡萄球菌临床分离株中的表达^[30]。

3.3 抑制生物膜形成

生物膜是复杂的微生物群落,是依附于某载体表面的由胞外多聚物和基质网包被的高度组织化、系统化的微生物膜性聚合物,60%以上的人类慢性感染与其有关。生物膜使得细菌对抗生素、宿主防御更具有抵抗力,并通过医疗设备促进慢性感染中的细菌持久存活。其中铜绿假单胞菌产生生物膜的能力较强,研究显示罗勒精油和鼠尾草精油可使铜绿假单胞菌生物膜产生能力降低,生物膜产量减少^[42]。精油中所含的单萜 β -蒎烯成分具有可控制耐药粪肠球菌菌株和减少非生物表面附着的生物膜数量的能力^[43]。丁香酚、香芹酚、百里香酚、对伞花烃和 γ -萜品烯单独或与四环素组合对口腔细菌有显著抗生物膜活性作用^[44]。

在针对在食品加工设施中不锈钢上形成的 48 h 生物膜检测显示,百里香、柠檬草、香根草 *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash、香茅、小茴香 *Cuminum cyminum* L.、天竺葵 *Pelargonium graveolens* L'Herit.、玫瑰草 *Cymbopogon martini* (Roxb.) W. Watson 和广藿香等精油可显著降低活的浮游的食源性金黄色葡萄球菌细胞生物膜数量,但不能完全去除生物膜,其中百里香精油和广藿香精油抗生物膜活性最强^[45]。此外,到手香 *Pogostemon cablin* Benth 精油及其主要成分香芹酚对耐苯唑西林和耐万古霉素金黄色葡萄球菌也有抗生物膜作用,其中香芹酚抗耐万古霉素金黄色葡萄球菌的 MIC 为 0.25 mg/mL、最低杀菌浓度(MBC)为 0.5 mg/mL^[46]。当精油或香芹酚质量浓度达 0.5 mg/mL 时,在金黄色葡萄球菌生物膜上未发现活细胞^[46]。亚抑制浓度的反式肉桂醛作用于正阪崎肠杆菌时,可下调其与鞭毛装置相关的基因 *fliD*、*flgJ*、*motA*、*motB*,并减少生物膜的形成^[47]。反式肉桂醛也可通过抑制胞外多糖合成(纤维素)、鞭毛形成和功能以及通过减少基因表达来抑制细胞间信号,从而减少生物膜的形成^[47]。精油中的香芹酚、柠檬醛、(+)-柠檬烯成分可抑制或消除 MRSA 生物膜形成,可用于食品添加剂以及环境消毒剂^[48]。

香芹酚、百里香酚、丁香酚分别与茶啶酸组合使用可增强鼠伤寒沙门菌对茶啶酸的易感性,抑制

不锈钢表面上的细菌生物膜形成,其中百里香酚最有效,其次是丁香酚和香芹酚,百里香酚 MIC 为 32~128 $\mu\text{g/mL}$ ^[49]。薄荷精油对致病性肺炎克雷伯菌生物膜有抑制作用,在 5 $\mu\text{L/mL}$ 时的生物膜抑制率为 69.2%~98.2%,其主要成分薄荷醇在 2.5 $\mu\text{L/mL}$ 时生物膜抑制率为 75.3~97.5%;百里香精油在 10 $\mu\text{L/mL}$ 时生物膜抑制率为 80.1%~98.0%,其主要成分百里香酚在 5 $\mu\text{L/mL}$ 时生物膜抑制率为 85.1%~97.8%;环丙沙星与百里香精油和百里香酚的组合可增强抗生素抗菌作用,并影响细菌生物膜细胞的活力^[18]。

3.4 抗群体感应(quorum sensing, QS)作用

细菌通过细胞-细胞之间的通讯系统,即 QS 系统协调细菌-细菌之间的相互作用和与高等生物体的关联。只有当细菌达到特定的细胞密度时, QS 控制的行为才会发生。其核心内容是以单细胞形式存在的微生物个体通过产生和感应小分子化学信号进行广泛的信息交流,从而以群体形式对寄主和外部环境做出协同反应,包括致病基因表达、影响细菌的运动性、生物膜形成和产生抗菌活性物质等。肉桂精油与哌拉西林组合使用后,大肠杆菌和多药耐药大肠杆菌生物发光表达显示减少,表明肉桂精油可能是 QS 的抑制剂,具有抗 QS 效应。肉桂精油可能通过 2 种途径逆转大肠杆菌对哌拉西林的耐药性:①改变外膜的通透性,在致死浓度和亚致死浓度下破坏细菌膜,增加了抗生素向细菌细胞的非特异性流动性;②抑制细菌 QS^[12]。肉桂精油和反式肉桂醛抑制铜绿假单胞菌群体感应分子假单胞菌喹诺酮信号的产生,细菌的成群运动和生物膜形成^[50]。反式肉桂醛可下调 QS 相关基因 *bcsA*、*luxR* 的表达,反式肉桂醛还干扰了 QS 系统的自诱导剂和生物膜形成,但其不抑制弧菌属细菌的生长^[51]。

3.5 抑制细菌细胞分裂

细菌细胞分裂受丝状温度敏感蛋白(FtsZ)调节, FtsZ 是微管蛋白的原核同源物。三磷酸鸟苷(GTP)依赖性聚合使 FtsZ 蛋白形成一种环状长丝形式的高动态聚合物结构,称为 Z 环;Z 环在胞内被组装并收缩细胞包膜,最终将母细胞分成 2 个子细胞^[52]。共聚焦显微镜下显示,在大肠杆菌细胞中,肉桂精油所含的反式肉桂醛成分可特异性干扰 Z 环空间排列使 Z 环消散,并减少大肠杆菌每细胞长度单位 Z 环的形成数,反式肉桂醛还能够通过结合蜡状芽孢杆菌中的 FtsZ 区域来抑制细胞分裂^[53]。

植物精油抑制抗生素耐药的作用机制见表 1。

表 1 植物精油抑制抗生素耐药的作用机制
Table 1 Inhibition mechanism of EO on antibiotic resistance

植物精油	主要成分	抑制抗生素耐药的作用	作用机制	参考文献
肉桂精油、生姜精油、薰衣草精油、柠檬草精油、马郁兰精油、薄荷精油、茶树精油	萜烯类、9,12-十八碳二烯酸甲酯、松油烯-4-醇、香叶醇、百里醌、香芹酚、对伞花烃	破坏细菌的细胞膜和细胞壁；穿透革兰阴性细菌外膜和线粒体的脂质层	改变外膜通透性	6,12,34-37
旋覆花精油、白芷精油、土荆芥精油、巴豆叶精油、百里香精油、牛至精油、鼠尾草精油	α -蒎烯、松油烯-4-醇、香叶醇	抑制细菌细胞膜上外排泵；下调 PmrA、tet (K) 基因表达水平	抑制细菌外排泵	11,30,35, 38-41
罗勒精油、鼠尾草精油、玫瑰草精油、广藿香精油、肉桂精油、薄荷精油、百里香精油	β -蒎烯、对伞花烃、 γ -萜品烯香芹酚、百里香酚、丁香酚、薄荷醇	减少附着生物膜数量；抑制生物膜的形成；抑制胞外多糖合成（纤维素）、鞭毛形成和功能以及减少与鞭毛装置相关的基因 <i>fliD</i> 、 <i>flgJ</i> 、 <i>motA</i> 、 <i>motB</i> 的表达	抑制生物膜形成	18,42-49
肉桂精油	反式肉桂醛	抑制细菌 QS；下调 QS 相关基因 <i>bcsA</i> 、 <i>luxR</i> 的表达；干扰 QS 的自诱导剂和生物膜形成	抗 QS 作用	12,50-51
肉桂精油	反式肉桂醛	特异性靶向细菌 Z 环空间排列，消散 Z 环并降低 Z 环的频率；结合 FtsZ 区域	抑制细菌细胞分裂	53

4 植物精油“抗生素”替代应用

4.1 医用抗生素

研究显示患有免疫疾病的患者长期接触抗生素后可能会产生高度抗性的病原体，将胶体 Ag 纳米颗粒 (NPs) 引入茶树油纳米乳液 (TTO NE) 的工程纳米系统可对大肠杆菌发挥协同作用 (FIC 0.48)，对金黄色葡萄球菌可发挥累加效应 (FIC 0.75)。茶树油纳米银乳液也可用于局部细菌感染的治疗，根除革兰阳性和革兰阴性细菌^[54]。

4.2 农用和食品抗生素

为了减少甚至消除食品 and 食品接触表面中的微生物污染，可将合成或天然化合物直接补充到食品中或加入其包装中用于清洁和消毒。今年来，人们越来越关注天然产物作为替代品的研究。植物精油中挥发性化合物的复杂混合物长期以来被认为是良好的抗菌剂和抗氧化剂，用于延长食品的保质期，其具有的多种药理作用被广泛用于抵御多重耐药病原微生物^[9]。如薄荷精油对植物致病菌如根癌农杆菌 *Agrobacterium tumefaciens* 有杀灭作用，被用于番茄冠瘿病的防治^[55]。

4.3 兽用抗生素和饲料添加剂

近年来，植物性饲料添加剂越来越多地被水产养殖业采用，这些添加剂不仅减少了抗生素的应用，而且还可改善鱼类的生长情况。含牛至精油、茴香精油和柑橘精油的饲料添加剂可增强虹鳟鱼对嗜水气单胞菌感染的防护作用。通过 3 种不同的途径给予细菌 (ip、浸入细菌溶液中、与感染的鱼共居)，接受饲料添加剂的受感染虹鳟鱼的死亡率显著降低，所有感染途径的总死亡率为 18%，而对照组为 37%。感染途径也显著影响死亡率，ip、浸泡和共居的平均死亡率分别为 60%、17.5% 和 5%^[56]。猪链球菌 *Streptococcus suis* 是一种重要的猪病原体和人畜共患病原体。研究显示肉桂精油、牛至精油、百里香精油和红百里香精油及其主要成分 (肉桂醛，香芹酚和百里香酚) 与常规抗生素 (土霉素、复方新诺明、庆大霉素和青霉素) 组合后可减少抗菌药物的使用，控制猪链球菌感染^[57]。

5 植物精油耐药性

随着细菌对食品保鲜技术的抵抗力增加，对食品安全和保质期构成威胁，人们已经提出使用天然

抗微生物剂如植物精油及其抗菌成分避免产生耐药性。然而,长期应用植物精油的抗菌成分也可能会导致耐药菌株的出现。研究发现抑制剂量的香芹酚、柠檬醛和 (+)-柠檬烯氧化物作用于金黄色葡萄球菌 USA300 后,分离出的耐药菌株对这 3 种成分耐药性增加,全基因组测序显示在包含编码转录调节因子和代谢酶的基因的区域中出现大量缺失,在编码分支酸合成酶的 *aroC* (N187K) 基因中显示单个错义突变,在编码 RNA 聚合酶亚基 β 的 *rpoB* (A862V) 基因中检测到错义突变^[58]。但也有应用产肠毒素金黄色葡萄球菌菌株的研究显示牛至精油对通常用于食品保存的抗微生物制剂的直接耐受或交叉耐受没有诱导作用^[59]。肠球菌对八角茴香精油和鼠尾草精油具有耐药性;白色念珠菌对鼠尾草精油具有耐药性^[26]。

精油当中的芳樟醇成分已成为香精、食品和化妆品行业的主要物质。但研究显示,野生型肠沙门氏菌菌株多次暴露于亚致死浓度的芳樟醇可导致菌株对芳樟醇本身的耐药性,芳樟醇对其的 MIC 增量至少为 8 倍,也使菌株对罗勒精油、甲氧苄啶、磺胺甲恶唑、哌拉西林、氯霉素、四环素产生耐药, MIC 增加 2~32 倍。这种变化与多种表型相关,包括膜脂肪酸组成变化、诱导流出、减少流入,细菌运动性的控制以及在芳樟醇存在下细菌形成更大聚集体的能力^[60]。

6 结语

植物精油具有广谱的抗病原微生物的作用,可以通过改变细菌外膜的通透性、抑制细菌外排泵、抑制细菌生物膜形成、抗细菌 QS 作用以及抑制细菌细胞分裂等方式缓解或应对病原微生物对抗生素的耐药作用。并且已经在农业、食品业、畜牧饲养业等行业开展了应用研究。但研究发现精油在应用过程中也出现了耐药的问题,因此精油的抗生素治疗或替代应基于不同精油或其他抗生素的组合和轮换,以防止或延缓耐药菌株的出现。

参考文献

- [1] Helal I M, El-Bessoumy A, Al-Bataineh E, *et al.* Antimicrobial efficiency of essential oils from traditional medicinal plants of asir region, Saudi Arabia, over drug resistant isolates [J]. *Biomed Res Int*, 2019, doi: 10.1155/2019/8928306.
- [2] Oliva A, Costantini S, De Angelis M, *et al.* High potency of *Melaleuca alternifolia* essential oil against multi-drug resistant Gram-negative bacteria and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Molecules*, 2018, 23(10): E2584.
- [3] Orchard A, Viljoen A, Van Vuuren S. Wound pathogens: Investigating antimicrobial activity of commercial essential oil combinations against reference strains [J]. *Chem Biodivers*, 2018, 15(12): e1800405.
- [4] Barbosa L N, Probst I S, Andrade B F, *et al.* In vitro antibacterial and chemical properties of essential oils including native plants from Brazil against pathogenic and resistant bacteria [J]. *J Oleo Sci*, 2015, 64(3): 289-298.
- [5] Lahmar A, Bedoui A, Mokdad-Bzeouich I, *et al.* Reversal of resistance in bacteria underlies synergistic effect of essential oils with conventional antibiotics [J]. *Microb Pathog*, 2017, 106: 50-59.
- [6] Vasconcelos N G, Croda J, Silva K E, *et al.* *Origanum vulgare* L. essential oil inhibits the growth of carbapenem-resistant gram-negative bacteria [J]. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2019, doi: 10.1590/0037-8682-0502-2018.
- [7] Ait S L, Zahlane K, Ghalbane I, *et al.* Chemical composition and antibacterial activity of *Lavandula coronopifolia* essential oil against antibiotic-resistant bacteria [J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29(6): 582-585.
- [8] Hosseinkhani F, Jabalameli F, Banar M, *et al.* Monoterpene isolated from the essential oil of *Trachyspermum ammi* is cytotoxic to multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* strains [J]. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2016, 49(2): 172-176.
- [9] Quendera A P, Barreto A S, Semedo-Lemsaddek T. Antimicrobial activity of essential oils against foodborne multidrug-resistant enterococci and aeromonads in planktonic and biofilm state [J]. *Food Sci Technol Int*, 2019, 25(2): 101-108.
- [10] Ghribi L, Nejma A B, Besbes M, *et al.* Chemical composition, cytotoxic and antibacterial activities of the essential oil from the Tunisian *Ononis angustissima* L. (Fabaceae) [J]. *J Oleo Sci*, 2016, 65(4): 339-345.
- [11] Ghafari O, Sharifi A, Ahmadi A, *et al.* Antibacterial and anti-PmrA activity of plant essential oils against fluoroquinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2018, 67(6): 564-569.
- [12] Yap P S, Krishnan T, Chan K G, *et al.* Antibacterial mode of action of *Cinnamomum verum* bark essential oil, alone and in combination with piperacillin, against a multi-drug-resistant *Escherichia coli* strain [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2015, 25(8): 1299-1306.

- [13] Sienkiewicz M, Lysakowska M, Pastuszka M, *et al.* The potential of use basil and rosemary essential oils as effective antibacterial agents [J]. *Molecules*, 2013, 18(8): 9334-9351.
- [14] Yap P S, Lim S H, Hu C P, *et al.* Combination of essential oils and antibiotics reduce antibiotic resistance in plasmid-conferred multidrug resistant bacteria [J]. *Phytomedicine*, 2013, 20(8/9): 710-713.
- [15] Lee H, Choi H, Lee J C, *et al.* Antibacterial activity of hibiscuslide C on multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates [J]. *Curr Microbiol*, 2016, 73(4): 519-526.
- [16] Utchariyakiat I, Surassmo S, Jaturanpinyo M, *et al.* Efficacy of cinnamon bark oil and cinnamaldehyde on anti-multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and the synergistic effects in combination with other antimicrobial agents [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16: 158.
- [17] Landoulsi A, Roumy V, Duhail N, *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from aerial parts and roots of *Eryngium barrelieri* Boiss. and *Eryngium glomeratum* Lam. from Tunisia [J]. *Chem Biodivers*, 2016, 13(12): 1720-1729.
- [18] Mohamed S H, Mohamed M S M, Khalil M S, *et al.* Combination of essential oil and ciprofloxacin to inhibit/eradicate biofilms in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* [J]. *J Appl Microbiol*, 2018, 125(1): 84-95.
- [19] Knezevic P, Aleksic V, Simin N, *et al.* Antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* essential oils and their interactions with conventional antimicrobial agents against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 178: 125-136.
- [20] Ashraf S, Anjum A A, Ahmad A, *et al.* *In vitro* activity of *Nigella sativa* against antibiotic resistant *Salmonella enterica* [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2018, 58: 54-58.
- [21] Mondello F, De Bernardis F, Girolamo A, *et al.* *In vitro* and *in vivo* activity of tea tree oil against azole-susceptible and-resistant human pathogenic yeasts [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2003, 51(5): 1223-1229.
- [22] Rajkowska K, Kunicka-Styczynska A, Maroszyńska M. Selected essential oils as antifungal agents against antibiotic-resistant *Candida spp.*: *In vitro* study on clinical and food-borne isolates [J]. *Microb Drug Resist*, 2017, 23(1): 18-24.
- [23] Mertas A, Garbusinska A, Szliszka E, *et al.* The influence of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) on fluconazole activity against fluconazole-resistant *Candida albicans* strains [J]. *Biomed Res Int*, 2015, doi: 10.1155/2015/590470.
- [24] Soares I H, Loreto E S, Rossato L, *et al.* *In vitro* activity of essential oils extracted from condiments against fluconazole-resistant and-sensitive *Candida glabrata* [J]. *J Mycol Med*, 2015, 25(3): 213-217.
- [25] Tortorano A M, Prigitano A, Dho G, *et al.* *In vitro* activity of conventional antifungal drugs and natural essences against the yeast-like alga *Prototheca* [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2008, 61(6): 1312-1314.
- [26] Ebani V V, Nardoni S, Bertelloni F, *et al.* Antimicrobial activity of five essential oils against bacteria and fungi responsible for urinary tract infections [J]. *Molecules*, 2018, doi: 10.3390/molecules23071668.
- [27] Schnitzler P, Koch C, Reichling J. Susceptibility of drug-resistant clinical herpes simplex virus type 1 strains to essential oils of ginger, thyme, hyssop, and sandalwood [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(5): 1859-1862.
- [28] Ekaterina J, Zheljaskov V D, Miroslava K, *et al.* Sequential elution of essential oil constituents during steam distillation of hops (*Humulus lupulus* L.) and influence on oil yield and antimicrobial activity [J]. *J Oleo Sci*, 2018, 67(7): 871-883.
- [29] Politi F A S, Souza A A, Fantatto R R, *et al.* Chemical composition and *in vitro* anthelmintic activity of extracts of tagetes patula against a multidrug-resistant isolate of *Haemonchus contortus* [J]. *Chem Biodivers*, 2018, 15(2): e1700507.
- [30] Chovanova R, Mezovska J, Vaverkova S, *et al.* The inhibition the Tet(K) efflux pump of tetracycline resistant *Staphylococcus epidermidis* by essential oils from three *Salvia* species [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2015, 61(1): 58-62.
- [31] Kwiatkowski P, Pruss A, Grygorcewicz B, *et al.* Preliminary study on the antibacterial activity of essential oils alone and in combination with gentamicin against extended-spectrum beta-lactamase-producing and new delhi metallo-beta-lactamase-1-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates [J]. *Microb Drug Resist*, 2018, 24(9): 1368-1375.
- [32] Gadisa E, Weldearegay G, Desta K, *et al.* Combined antibacterial effect of essential oils from three most commonly used Ethiopian traditional medicinal plants on multidrug resistant bacteria [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2019, 19(1): 24.
- [33] Soliman S S M, Alsaadi A I, Youssef E G, *et al.* Calli essential oils synergize with lawsone against multidrug resistant pathogens [J]. *Molecules*, 2017, doi: 10.3390/molecules22122223.

- [34] El-Shouny W A, Ali S S, Sun J, *et al.* Drug resistance profile and molecular characterization of extended spectrum beta-lactamase (ESbetaL)-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn wound infections. Essential oils and their potential for utilization [J]. *Microb Pathog*, 2018, 116: 301-312.
- [35] Vasireddy L, Bingle L E H, Davies M S. Antimicrobial activity of essential oils against multidrug-resistant clinical isolates of the *Burkholderia cepacia* complex [J]. *PLoS One*, 2018, 13(8): e0201835.
- [36] Mouwakeh A, Kincses A, Nove M, *et al.* *Nigella sativa* essential oil and its bioactive compounds as resistance modifiers against *Staphylococcus aureus* [J]. *Phytother Res*, 2019, 33(4): 1010-1018.
- [37] Mouwakeh A, Telbisz A, Spengler G, *et al.* Antibacterial and resistance modifying activities of *Nigella sativa* essential oil and its active compounds against *Listeria monocytogenes* [J]. *In Vivo*, 2018, 32(4): 737-743.
- [38] Wu M, Li T, Chen L, *et al.* Essential oils from *Inula japonica* and *Angelica dahurica* enhance sensitivity of MCF-7/ADR breast cancer cells to doxorubicin via multiple mechanisms [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 180: 18-27.
- [39] De Moraes Oliveira-Tintino C D, Tintino S R, Limaverde P W, *et al.* Inhibition of the essential oil from *Chenopodium ambrosioides* L. and alpha-terpinene on the NorA efflux-pump of *Staphylococcus aureus* [J]. *Food Chem*, 2018, 262: 72-77.
- [40] De Medeiros V M, Do Nascimento Y M, Souto A L, *et al.* Chemical composition and modulation of bacterial drug resistance of the essential oil from leaves of *Croton grewioides* [J]. *Microb Pathog*, 2017, 111: 468-471.
- [41] Krishnamoorthy R, Athinarayanan J, Periasamy V S, *et al.* Antimicrobial activity of nanoemulsion on drug-resistant bacterial pathogens [J]. *Microb Pathog*, 2018, 120: 85-96.
- [42] Stojanovic-Radic Z, Pejic M, Stojanovic N, *et al.* Potential of *Ocimum basilicum* L. and *Salvia officinalis* L. essential oils against biofilms of *P. aeruginosa* clinical isolates [J]. *Cell Mol Biol*, 2016, 62(9): 27-33.
- [43] Negreiros M O, Pawlowski A, Zini C A, *et al.* Antimicrobial and antibiofilm activity of *Baccharis psiadioides* essential oil against antibiotic-resistant *Enterococcus faecalis* strains [J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(12): 3272-3279.
- [44] Miladi H, Zmantar T, Kouidhi B, *et al.* Synergistic effect of eugenol, carvacrol, thymol, p-cymene and gamma-terpinene on inhibition of drug resistance and biofilm formation of oral bacteria [J]. *Microb Pathog*, 2017, 112: 156-163.
- [45] Vazquez-Sanchez D, Cabo M L, Rodriguez-Herrera J J. Antimicrobial activity of essential oils against *Staphylococcus aureus* biofilms [J]. *Food Sci Technol Int*, 2015, 21(8): 559-570.
- [46] Vasconcelos S, Melo H M, Cavalcante T T A, *et al.* *Plectranthus amboinicus* essential oil and carvacrol bioactive against planktonic and biofilm of oxacillin- and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2017, 17(1): 462.
- [47] Amalaradjou M A, Venkitanarayanan K. Effect of trans-cinnamaldehyde on inhibition and inactivation of *Cronobacter sakazakii* biofilm on abiotic surfaces [J]. *J Food Prot*, 2011, 74(2): 200-208.
- [48] Espina L, Pagan R, Lopez D, *et al.* Individual constituents from essential oils inhibit biofilm mass production by multi-drug resistant *Staphylococcus aureus* [J]. *Molecules*, 2015, 20(6): 11357-11372.
- [49] Miladi H, Zmantar T, Kouidhi B, *et al.* Use of carvacrol, thymol, and eugenol for biofilm eradication and resistance modifying susceptibility of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* strains to nalidixic acid [J]. *Microb Pathog*, 2017, 104: 56-63.
- [50] Kim Y G, Lee J H, Kim S I, *et al.* Cinnamon bark oil and its components inhibit biofilm formation and toxin production [J]. *Int J Food Microbiol*, 2015, 195: 30-39.
- [51] Brackman G, Celen S, Hillaert U, *et al.* Structure-activity relationship of cinnamaldehyde analogs as inhibitors of AI-2 based quorum sensing and their effect on virulence of *Vibrio spp* [J]. *PLoS One*, 2011, 6(1): e16084.
- [52] Haeusser D P, Margolin W. Splitsville: Structural and functional insights into the dynamic bacterial Z ring [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14(5): 305-319.
- [53] Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, *et al.* Effect of essential oils on pathogenic bacteria [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2013, 6(12): 1451-1474.
- [54] Najafi-Taher R, Ghaemi B, Kharrazi S, *et al.* Promising antibacterial effects of silver nanoparticle-loaded tea tree oil nanoemulsion: A synergistic combination against resistance threat [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2018, 19(3): 1133-1140.
- [55] Hsouna A B, Touj N, Hammami I, *et al.* Chemical composition and *in vivo* efficacy of the essential oil of *Mentha piperita* L. in the suppression of crown gall disease on tomato plants [J]. *J Oleo Sci*, 2019, 68(5): 419-426.
- [56] Menanteau-Ledouble S, Krauss I, Santos G, *et al.* Effect

- of a phytogenic feed additive on the susceptibility of *Onchorhynchus mykiss* to *Aeromonas salmonicida* [J]. *Dis Aquat Organ*, 2015, 115(1): 57-66.
- [57] De Aguiar F C, Solarte A L, Tarradas C, *et al.* Combined effect of conventional antimicrobials with essential oils and their main components against resistant *Streptococcus suis* strains [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2019, 68(6): 562-572.
- [58] Berdejo D, Chueca B, Pagan E, *et al.* Sub-inhibitory doses of individual constituents of essential oils can select for *Staphylococcus aureus* resistant mutants [J]. *Molecules*, 2019, doi: 10.3390/molecules24010170.
- [59] Tavares A G, Monte D F, Albuquerque Ados R, *et al.* Habituation of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* to *Origanum vulgare* L. essential oil does not induce direct-tolerance and cross-tolerance to salts and organic acids [J]. *Braz J Microbiol*, 2015, 46(3): 835-840.
- [60] Kalily E, Hollander A, Korin B, *et al.* Adaptation of *Salmonella enterica* serovar Senftenberg to linalool and its association with antibiotic resistance and environmental persistence [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2017, doi: 10.1128/AEM.03398-16.